

# 초분광 이미징 시스템을 이용한 암 혈관 분석에 대한 연구

최세운\*

\*동명대학교 의용공학과

## A study on the tumor induced microvasculature using hyperspectral imaging system

Se-woon Choe \*

\*Biomedical Engineering, Tongmyong University

E-mail : sewoon@tu.ac.kr

### 요 약

암 세포 주변의 저산소증은 방사선, 항암치료제, 절제술 등을 이용한 항암치료법에 중요한 역할을 하는데, 특히 암세포 주변의 모세혈관 내에서의 산소의 이동 분석은 암의 발달 및 전이, 주변 혈관의 생성과 변이에 직간접적 영향을 미친다. 따라서 현재 암 병변 주변의 모세혈관 내 헤모글로빈 산소포화도를 측정하고 혈관의 생성 및 변이상태를 측정하는 연구가 활발하게 진행되고 있지만, 대부분의 측정장비는 침습적인 방법으로 진행되며, 해상도 또한 기대이하의 공간 및 시간영역을 제공하는 한계가 있다. 따라서 본 연구에서는 비침습적 헤모글로빈 산소포화도 이미지와 다양한 이미지프로세싱 기법을 이용하여 실시간 혈관변화의 분석을 통해 암 혈관 생성 및 변이의 특성을 제공할 수 있는 초분광 이미징 시스템 활용 방법을 제시하고자 한다.

### ABSTRACT

Tumor hypoxia caused by the unique characteristics of solid tumor sites such as lowered vascular density, irregular vasculature, longitudinal oxygen gradient, and unbalanced oxygen consumption has decreased therapeutic efficacy in several clinical trials such as radiation, chemotherapy, and surgery. Hence, tumor oxygenation studies at microvascular levels are important to provide better understanding of the complexity of microvasculature oxygen transport and exchange with tissue. However, polarographic microelectrodes, was employed to measure  $pO_2$  at the microvasculature level, but it is difficult to perform and does not provide significant spatial and temporal information of oxygen delivery. In this research, we introduce the hyperspectral imaging system able to provide a wide range of vascular characteristics by spatial maps on hemoglobin saturation information for better understanding of the relationship between blood oxygen delivery, hypervascularity, aberrant angiogenesis at microvasculature levels during tumor growth.

### 키워드

초분광 이미징 시스템, 암, 모세혈관, 혈액

### I. 서 론

전임상 초분광 이미징 시스템은 타겟의 2차원 공간영상정보를 10nm 이하의 파장별 분해능으로 획득하여 3차원의 데이터큐브를 생성하는 특징을 가지고 있으며, 이를 이용하여 획득된 이미지를 통해 다양한 생체분석 가능한 신호 (과혈관성, 비정상적 신생혈관 형성, 기형적 혈관의 변이, 신생

혈관의 손상, 비침습적 혈관 내 산소포화도, 혈관 간의 산소이동, 혈관 치료효과 검증 등)의 분석을 가능하게 한다. 이를 위하여 설치류의 배면에 윈도우 챔버를 설치하고 광학을 이용한 피부 표피 내의 혈관을 관찰함으로써 혈관 관련 질환과 암 등 혈관의 변화가 질병의 발생, 전이 및 치료에 밀접하게 연관되어 있는 질병들의 메카니즘 규명 및 진단에 활발하게 사용되고 있다. 또한 다양한

혈관 질환 및 암 관련 질병의 치료목적으로 새롭게 개발된 약물이나 레이저를 이용한 새로운 치료방법 등 검증되지 않은 치료방법의 효과와 안정성을 확인할 수 있는 중요한 검증도구로 널리 쓰이고 있다 [1].

본 실험에서는 설치류의 배면에 타이타늄 윈도우 챔버를 설치하고 암세포를 주입한 후, 약 7일간 같은 영역을 초분광 이미징 시스템을 이용하여 헤모글로빈의 산소포화도의 변화를 관찰하고 분석 가능한 방법을 제시하도록 한다.

## II. 연구 방법

전임상을 목적으로 하며 특히 혈관질환 및 변화 분석을 목적으로 하는 초분광 이미징 시스템은 기존 Zeiss AxioImager microscope의 플랫폼을 사용하며 설치류의 배면에 설치된 윈도우 챔버를 영상화 하기 위해 100W 텅스텐 할로젠 램프를 광원으로 사용한다. 초분광 영상을 얻기 위해 해상도 1388×1024픽셀의 12비트 유동범위를 갖고 -20도로 냉각이 가능한 CCD (Charge Coupled Device) 카메라를 이용하게 되며, 보다 고해상도의 영상 혹은 빠른 적혈구의 이동과 같이 초당 많은 프레임을 요구하는 영상획득을 위해서는 -50도까지 냉각이 가능한 EMCCD (Electron Multiplying Charge Coupled Device) 카메라를 이용하기도 한다. 전임상의 모세혈관부터 대동맥에 이르는 다양한 혈관 분석을 위해 C-mounted LCTF (Liquid Crystal Tunable Filter)를 CCD 카메라의 전면부에 부착하여 이용하게 되면 400nm~720nm대역의 5nm 밴드 폭을 갖는 영상획득이 가능하다.

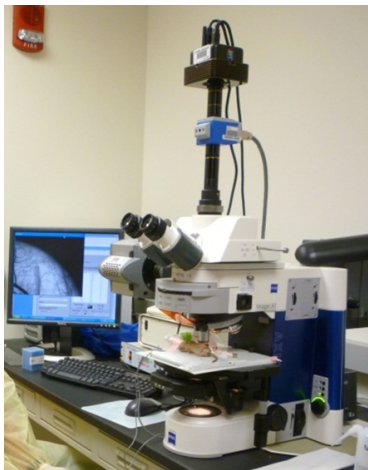


그림 1. 전임상용 초분광 이미징 장비

초분광 이미징 영상획득을 위해 LabView 프로그램을 이용하며 CCD카메라 및 LCTF의 제어가 가능하게 되고, 이를 통해 사용자가 선택된 파장

에서의 사용자의 요구에 맞는 노출시간 동안 특정한 이득이 반영되어 자동적으로 획득된 초분광 이미지의 저장에 가능하다. 정동맥 내의 산소변화량을 위해서는 자동화된 시스템을 이용하여 헤모글로빈포화도를 만들어 내기위한 특정 파장의 초분광 이미지를 저장해야하는데, 이는 LCTF를 이용하여 총 16장의 500nm~575nm 파장대역의 이미지를 5nm의 간격으로 획득이 가능하며 연결된 컴퓨터로 저장이 가능하다.

배면내의 이미지 획득을 위해 타이타늄 재질의 윈도우 챔버를 마우스 모델에 기존의 방법과 같이 설치하고 암세포 (4T1; mammary carcinoma cell)을 윈도우 챔버 내에 주입한 후, 정기적인 시간동안 이미지를 획득하기 위하여 아이소플루레인 (isoflurane) 1%~5%를 이용한 호흡기 마취를 통해 총 16장의 500nm~575nm 파장대역의 이미지를 5nm 간격으로 획득 한다 [2]. 파장별 영상은 약 10초 내외로 획득이 가능하며 이러한 영상은 Matlab을 이용하여 헤모글로빈 산소포화도 지도를 만드는데 사용된다.



그림 2. 배면에 설치된 윈도우챔버 마우스 모델

헤모글로빈의 산소포화 이미지를 얻기 위해서는 혈액의 유동이 없는 무혈관 지역의 백그라운드에서 얻어진 수치를 기준으로 무산소 및 유산소포화도 값을 측정할 수 있다. 또한, 헤모글로빈의 광 흡수치는 식(1)과 선형 최소자승 회귀분석 (Linear Least-Square Regression)을 이용하여 유도할 수 있다.

$$A_{\lambda} = \log\left(\frac{I_0}{I}\right) = \epsilon_{\lambda}^{HbO_2} [HbO_2] L + \epsilon_{\lambda}^{Hb-R} [Hb-R] L + SL \quad (1)$$

## III. 실험 및 결과 분석

초분광 이미징 장비를 이용해 500nm부터 575nm까지 파장간격 5nm의 이미지를 획득하고 식 (1)을 통해 헤모글로빈 산소포화 맵의 생성이 가능하다. 산소포화도에서 붉은 색으로 표현되는 부분은 산소 포화도가 100%에 가까운 동맥혈이 흐르는 혈관을 의미하고, 반대로 짙은 푸른색으로 갈수록 산소 포화도가 0%에 가까운 정맥혈이 흐

르는 혈관임을 알 수 있다. 이러한 과정을 관심영역의 혈관을 중심으로 약 7일간 반복한 후 그림 3과 같이 암세포의 발달과정에 따른 주변 혈관의 변화 및 산소포화도의 이동성을 분석할 수 있다.

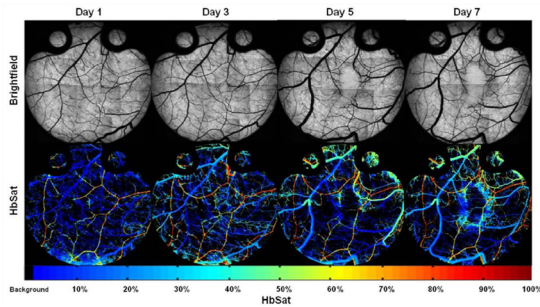


그림 3. 헤모글로빈 산소포화도 이미지의 예

이러한 헤모글로빈 산소포화도 맵은 그림 4와 같은 방식으로 얻어지며 추가적으로 이미지 후처리 과정을 통해 평균 동/정맥의 분포치를 계산해 낼 수 있다. 이는 초분광 이미징 시스템이 암세포와 관련된 혈관의 생성 및 변이, 혈관 간 산소의 이동 등 여러 종류의 중요한 생체신호를 분석해 낼 수 있는 실시간 전임상용 분석 장비이며 이미지 프로세싱 테크닉을 이용한 다양한 분야의 응용가능성을 보여준다.

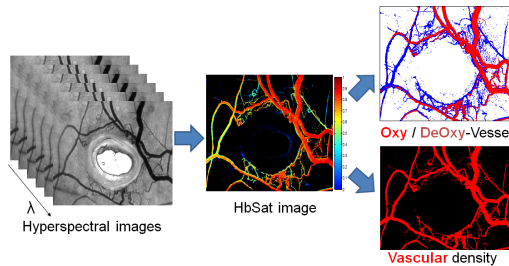


그림 4. 초분광 이미지 획득 및 이미지 후처리 방식

#### IV. 결 론

본 연구에서는 윈도우 챔버가 설치된 마우스모델을 이용한 초분광 이미징 시스템의 전임상적 응용분야를 소개하였다. 초분광 이미징 시스템을 이용하여 얻어진 헤모글로빈의 산소포화 맵은 다양한 질병에 기인한 혈관의 생성 및 변화, 혈관간의 산소 이동 등 혈관의 물리적 및 생리학적 고유정보를 실시간으로 제공 가능하다. 또한 시공간적 고해상도의 이미지 처리과정을 통해 혈관질환 진단기기, 치료제 효과의 정량분석기, 비침습적 혈관 조형기, 바이오 재료의 생착성 및 생분해 능력 검출기 등의 의료기기 제조 산업으로 응용범위가 다양할 것으로 기대하며, 이를 위해 현재 상용화 되어있는 혈관 치료제 및 항암치료제를 마

우스 모델에 주입하여 치료효과를 검증하는 시스템 구축이 필요하며 전임상에 제한되어있지 않은 임상용 초분광 이미징 시스템 개발을 위해 추가적 연구가 필요하다.

#### 참고문헌

- [1] J. Qin, L. Shi, H. Wang, R. Rief, R. K. Wang, "Functional evaluation of hemodynamic response during neural activation using optical microangiography integrated with dual wavelength laser speckle imaging," *Journal of Biomedical Optics*, Vol. 19, No. 2, pp. 026013, February 2014.
- [2] S. Choe, D. S. Terman, A. E. Rivers, J. Rivera, R. Lottenberg, B. S. Sorg, "Drug-loaded sickle cells programmed ex vivo for delayed hemolysis target hypoxic tumor microvessels and augment tumor drug delivery," *Journal of Controlled Release*, Vol. 171, Issue 2, pp. 184-192, July 2013